



TITLE:

Roles of ADAM8 in elimination of injured muscle fibers prior to skeletal muscle regeneration(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Nishimura, Daigo

CITATION:

Nishimura, Daigo. Roles of ADAM8 in elimination of injured muscle fibers prior to skeletal muscle regeneration. 京都大学, 2015, 博士(医科学)

ISSUE DATE:

2015-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k18903>

RIGHT:

京都大学	博士（医科学）	氏 名	西 邨 大 吾
論文題目	Roles of ADAM8 in elimination of injured muscle fibers prior to skeletal muscle regeneration (骨格筋再生に先行する損傷筋除去における ADAM8 の役割)		
(論文内容の要旨)			
<p>骨格筋には高い再生能がある。筋肉が損傷を受けると筋衛星細胞と呼ばれる筋特異的幹細胞が活性化され増殖、分化を経て新たな筋繊維が再生される。しかし筋組織が正常に修復されるためには筋衛星細胞の活性化に先行して炎症細胞の働きが不可欠である。炎症細胞は損傷筋細胞の除去に加えて筋衛星細胞の活性化に関わることが知られ、好中球および単球を除去したマウスでは筋再生が正常に起らないが、その機構には不明なところが多い。膜貫通型プロテアーゼ A disintegrin and metalloprotease 8 (ADAM8)は、ゼブラフィッシュにおいては血球と血管内皮の接着解除を介して血液循環の開始に関わる。一方 ADAM8 欠損マウスは発生段階での顕著な表現型は報告されておらず生殖可能であるが、喘息などの炎症状態で発現が上昇し、炎症への関与が示唆されている。そこで本研究において申請者は、骨格筋損傷に伴う炎症・筋再生過程における ADAM8 の役割と機能を探った。</p> <p>まずカルジオトキシンによりマウスに筋損傷を与え、ADAM8 の発現の経時変化を調べたところ、ADAM8 の発現は損傷後 1 日後にピークに達した後に徐々に減少した。ADAM8 は、損傷後 1 日後の筋肉では CD45 (+)の白血球成分特異的に強く発現し、それを表面抗原マーカーである Ly6G、Ly6C を用いてさらに分画すると、好中球成分である Ly6G(+)Ly6C(-)の集団で特に高い発現がみとめられた。次に ADAM8 の筋再生に対する寄与を評価するために、骨格筋の損傷・再生が繰り返し起こるデュシェンヌ型筋ジストロフィーモデルと ADAM8 欠損マウスを掛け合わせ、両方の遺伝子が欠損したマウスの骨格筋を解析したところ、このマウスでは壊死した筋繊維の顕著な残存と石灰化像の亢進が観察され、壊死細胞を取り囲む多数のマクロファージの残存が見られた。さらにカルジオトキシンによる筋損傷においても、ADAM8 欠損マウスは壊死繊維残存の亢進を示した。この際、損傷組織への単球の浸潤低下は見られなかった。これに対し、筋損傷後の好中球の損傷組織への浸潤を免疫染色により調べると、ADAM8 欠損マウスの好中球は、損傷筋のまわりの間葉組織には野生型と同程度に浸潤するが、基底膜を越えて筋繊維内に侵入し大きな凝集塊を形成する割合が、野生型マウスの好中球に比べ顕著に減少していた。好中球は、PSGL-1/セレクトイン接着による血管内でのローリングからインテグリンを介した血管との強い接着を誘導し間葉組織へと浸潤する。好中球等の炎症細胞で発現する接着分子 P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1)は細胞外ドメインの切断制御を受けることが知られており、ADAM8 はその切断制御に関与するプロテアーゼのひとつである。そこで、筋損傷後の好中球における PSGL-1 の発現を免疫染色によって調べると、好中球は間葉組織に浸潤後も PSGL-1 の細胞外ドメインを発現しているが、基底膜を越え筋繊維内侵入後の好中球ではその発現が消失することがわかり、好中球の損傷筋への侵入が PSGL-1 の細胞外ドメイン消失を伴うことが示唆された。さらにフローサイトメトリーによる解析において、野生型に比</p>			

<p>べ ADAM8 欠損マウスでは PSGL-1^{low}の好中球の割合が有意に低下しており、好中球の損傷筋組織内移動における PSGL-1 細胞外ドメイン消失への ADAM8 の寄与が示された。好中球除去により損傷筋の除去が不完全になることなどを考え合わせると、ADAM8 は、好中球の損傷筋繊維内への侵入を促進することにより、骨格筋再生に先行する損傷筋の効率的な除去に関与していると考えられる。</p> <p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>損傷した骨格筋が再生するためには炎症細胞の働きが不可欠であることが知られている。膜貫通型プロテアーゼ A disintegrin and metalloprotease 8 (ADAM8)は白血球で発現し、炎症への関与が示唆されている。申請者は骨格筋損傷に伴う炎症・筋再生過程における ADAM8 の役割と機能を探った。</p> <p>ADAM8 は筋損傷 1 日後に浸潤してくる好中球で高い発現が認められた。ADAM8 の筋再生に対する関与を調べるため、デュシェンヌ型筋ジストロフィーモデルマウスと ADAM8 欠損マウスを掛け合わせ、遺伝的に筋損傷を誘導したマウスの再生筋を解析した。その結果 ADAM8 欠損マウスでは壊死した筋繊維の顕著な残存と石灰化像の亢進が観察された。この原因を探るために好中球に着目した。筋損傷時に好中球は損傷筋繊維の基底膜を越えて侵入し、凝集塊を形成する。ADAM8 欠損マウスではこの凝集塊を形成する割合が減少していた。さらに ADAM8 が切断に関与する接着分子 P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1) の発現を調べたところ、基底膜を通過して損傷筋繊維内に侵入した好中球では PSGL-1 の発現の減少が見られ、ADAM8 欠損マウスでは PSGL-1^{low}の好中球の割合が有意に低下していた。このことから好中球の損傷筋組織内移動は PSGL-1 消失を伴い、その消失に対する ADAM8 の寄与が示された。</p> <p>以上の研究は骨格筋再生に先行する炎症反応の機序の解明に貢献し、筋疾患の病態の解明や治療につながる基礎的知見を得たものである。</p> <p>したがって、本論文は博士（医科学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 2 7 年 2 月 9 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
要旨公開可能日： 年 月 日以降			